
CONFERÊNCIA THOMÉ VILLAR*

Apoptose

LUIS DELGADO**

RESUMO

A apoptose, ou morte celular programada, é um processo ubiqüitário de morte celular com características morfológicas próprias, cujos mecanismos básicos parecem estar preservados desde os invertebrados. Após a sua descrição em tumores, há mais de 20 anos, numerosos estudos têm implicado a apoptose em múltiplos aspectos do funcionamento do sistema imunológico, da resposta inflamatória, no controle da replicação vírica e do crescimento tumoral. Sabe-se hoje, também, que o produto de diversos genes tumorais supressores e de oncogenes regulam a apoptose e que a eficácia de muitas terapêuticas anti-tumorais depende da sua indução nas células neoplásicas. O autor aborda os principais aspectos morfológicos e bioquímicos da apoptose e as suas implicações num melhor conhecimento da biologia celular e molecular do pulmão em patologia inflamatória, infecciosa e tumoral.

SUMMARY

Apoptosis, or programmed cell death, is a general and physiologic mechanism of cell death, with distinct morphological characteristics, whose basic mechanisms may be conserved in evolution since invertebrates. Since its description in tumours, over 20 years ago, a large number of investigations have implied apoptosis in several aspects of immunology, of the inflammatory response and in the control of viral replication and tumour growth. It is now well established that the

* XII Congresso de Pneumologia, Porto, 12 de Novembro de 1996

** Assistente Hospitalar, Serviço de Imunologia e Unidade de Imunoalergologia
Hospital de S. João. Porto
Professor Auxiliar de Imunologia da Faculdade de Medicina do Porto.

Recebido para publicação: 96.12.17

products of several tumour suppressor genes and oncogenes regulate apoptosis, and that the success of several anti-cancer treatments depend on apoptosis induction in tumour cells. The author addresses the basic morphological and biochemical characteristics of apoptosis and its impact in the understanding of the cellular and molecular biology of lung inflammatory, infectious and tumoural pathology.

INTRODUÇÃO

A apoptose, ou morte celular programada, foi descrita há mais de 20 anos por *Kerr, Wyllie e Currie* pelo estudo da histopatologia tumoral, e definida como «um fenómeno biológico básico com grandes implicações na cinética celular». De facto, a apoptose é um processo ubiqüitário e morfologicamente distinto de morte celular, cujos mecanismos básicos parecem estar preservados desde os invertebrados, e que tem sido implicado em praticamente todos os aspectos da resposta imunológica. É o caso da maturação e diferenciação dos linfócitos T e B, a sua tolerância aos antígenos do próprio, o controle da expansão clonal, a actividade citotóxica dos linfócitos e o controle da replicação vírica. Além disso, sabe-se hoje que o

produto de diversos genes tumorais supressores e de oncogenes, como o *myc*, *bcl-2*, *Rb* e *p53*, têm um papel preponderante na regulação da apoptose, e que muita da eficácia das terapêuticas anti-tumorais depende da indução de apoptose nas células neoplásicas.

O termo apoptose refere-se à morte celular programada, fisiológica, e apresenta características que a distingue da morte celular patológica, ou necrose (Fig. 1, Quadro I). Nesta, observada por exemplo após uma lesão tecidual, há uma rotura precoce da membrana celular, com libertação do conteúdo do citoplasma e núcleo, indução de inflamação e acumulação local de detritos celulares, fenómenos que não se observam na apoptose.

Assim, a apoptose poderá ser um mecanismo primordial na ontogenia de diversas linhas celulares. Por exemplo, os neurónios, ao falharem o desenvolvi-

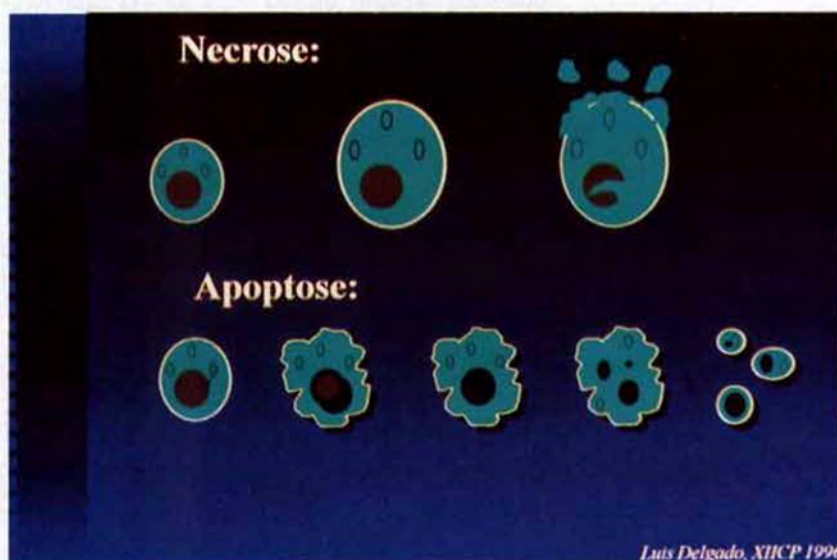


Fig. 1 – A apoptose, morte celular programada, apresenta características que a distingue da morte celular patológica, ou necrose. Nesta, há rotura precoce da membrana celular, libertação do conteúdo do citoplasma e núcleo, com acumulação local de detritos celulares e inflamação. Na apoptose há condensação da cromatina, fragmentação do núcleo e citoplasma que ficam contidos no interior de componentes da membrana celular (*apoptotic bodies*).

QUADRO I

Características da apoptose- morte celular programada (fisiológica)

- ✓ Condensação da cromatina
- ✓ Fragmentação do núcleo
- ✓ Fragmentação do ADN (entre nucleosomas)
- ✓ Fragmentação do citoplasma com membrana celular (*apoptotic bodies*)
- ✓ Endocitose rápida por fagócitos, sem indução de inflamação

mento dos seus contactos celulares, ou os timócitos, ao desenvolverem capacidade de reconhecer auto-antígenos, poderão sofrer apoptose e serem eliminados de um modo não-inflamatório. A apoptose parece também corresponder a um mecanismo geral da resposta celular à lesão do ADN (p.ex. induzida por radiação ou drogas citotóxicas) podendo assim contribuir para a eliminação de células com mutações. Em células que estão sujeitas a uma expansão ciclica, como é o caso das células imunocompetentes (linfócitos) após estimulação antigénica (expansão clonal), e as células reprodutoras, o controlo do crescimento celular dependerá de um balanço entre a proliferação e a morte celular, que

parecem partilhar alguns mecanismos comuns. Assim, o efeito de um determinado factor de crescimento numa linha celular poderá depender da indução de proliferação e/ou da inibição da sua apoptose.

MECANISMOS DA APOPTOSE

A apoptose pode ser iniciada por diferentes estímulos (Fig. 2), alguns dos quais poderão desencadear respostas contrárias (proliferação ou apoptose) consoante o tipo celular ou o seu grau de diferenciação. Na estimulação antigénica dos linfócitos T, uma molécula

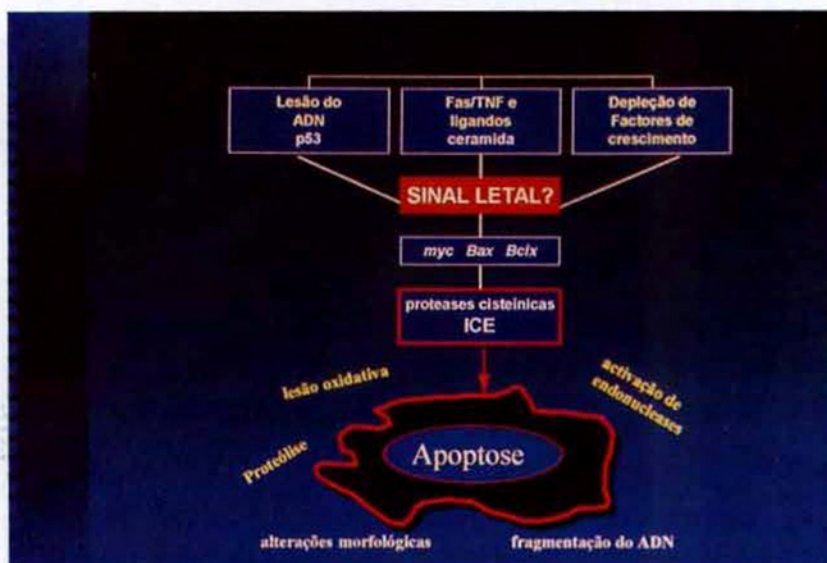


Fig. 2 – A apoptose pode ser iniciada por diferentes estímulos. No entanto, parece haver pontos de controlo comuns aos diferentes estímulos e sistemas celulares – uma família de oncogenes relacionados entre si (*Bcl-2*, *Bax*, *Bcl-x*,...) e uma família de proteases cisteínicas, que inclui a enzima conversora da interleucina-1 β (ICE). As proteases relacionadas com a ICE poderão representar o ponto de controlo positivo (indutor) da apoptose.

da superfície linfocitária – o Fas (CD 95) – funciona como co-estimulador T induzindo proliferação após interacção com o seu ligando (Fas-L); mais tarde, após a eliminação do antígeno, a interacção Fas/Fas-L induz apoptose dos linfócitos T específicos, limitando assim a expansão desse clone celular. Alguns proto-oncogenes que induzem proliferação celular, como o *c-myc*, podem levar à apoptose se expressos aberrantemente. Finalmente, o gene tumoral supressor *p53* poderá controlar distintamente a resposta celular à lesão do ADN - reparação e progressão no ciclo celular ou apoptose.

Os mecanismos intracelulares envolvidos na apoptose são ainda hoje em grande parte desconhecidos (Fig. 2). No entanto, independentemente do estímulo inicial que desencadeia a apoptose, parece haver pontos de controlo fundamentais, comuns aos diferentes estímulos e sistemas celulares, como é o caso de uma família de oncogenes relacionados entre si (*Bcl-2*, *Bax*, *Bcl-x*,...) e de uma família de proteases cisteínicas, que inclui a enzima conversora da interleucina-1 β (ICE). As proteases relacionadas com a ICE poderão representar o ponto de controlo positivo (indutor) da apoptose; pelo contrário o produto do oncogene *Bcl-2*, uma proteína

localizada nas membranas intracelulares (Fig. 3), poderá representar um inibidor geral da apoptose, possivelmente ligando e inibindo outros membros da mesma família que induzem apoptose (*Bcl-xs*, *Bax*, p.ex.). O equilíbrio entre estes dois pontos-proteases cisteínicas, inductoras, e proteínas do tipo *Bcl-2*, inibidoras - poderá ser crítico para decidir o destino celular: apoptose ou sobrevivência.

A MORTE CELULAR NO SISTEMA IMUNOLÓGICO

O sistema imunológico protege-se de uma reacção contra antígenos do próprio (*self*) pela eliminação (deleção clonal) dos linfócitos T potencialmente auto-reactivos. Essa deleção ocorre habitualmente no timo (selecção negativa), um órgão linfo-epitelial onde, caracteristicamente, um grande número de timócitos sofre apoptose. Sabe-se hoje que a deleção de clones auto-reactivos pode ocorrer também fora do timo («na periferia»), num mecanismo de apoptose que envolve o CD95 (Fas) e o seu ligando (Fig. 4). Assim, uma perturbação nesse mecanismo poderia acarretar o aparecimento de doenças auto-imunes. Esta hipótese tem sido consubstanciada pela existência de duas

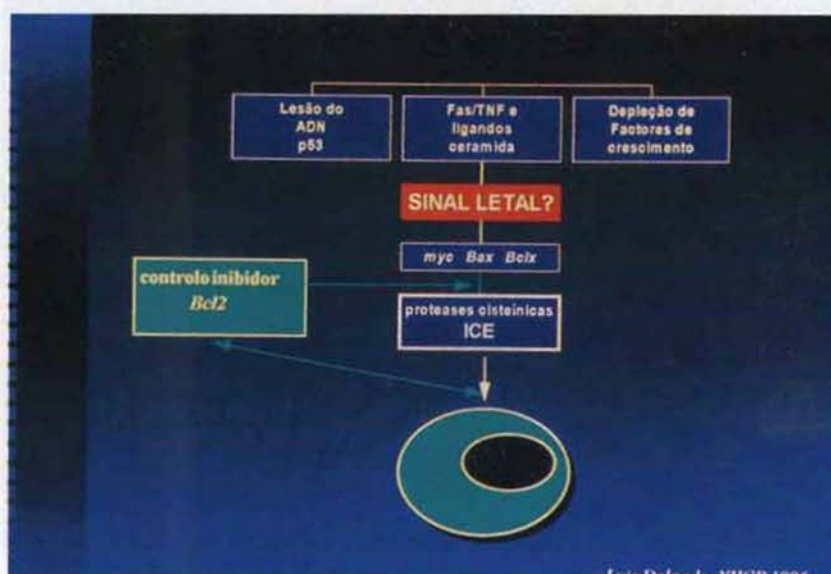


Fig. 3 – Controlo da apoptose. O produto do oncogene *Bcl-2*, uma proteína localizada nas membranas intracelulares, poderá representar um inibidor geral da apoptose, possivelmente ligando e inibindo outros membros da mesma família que induzem apoptose (*Bcl-xs*, *Bax*, p.ex.).

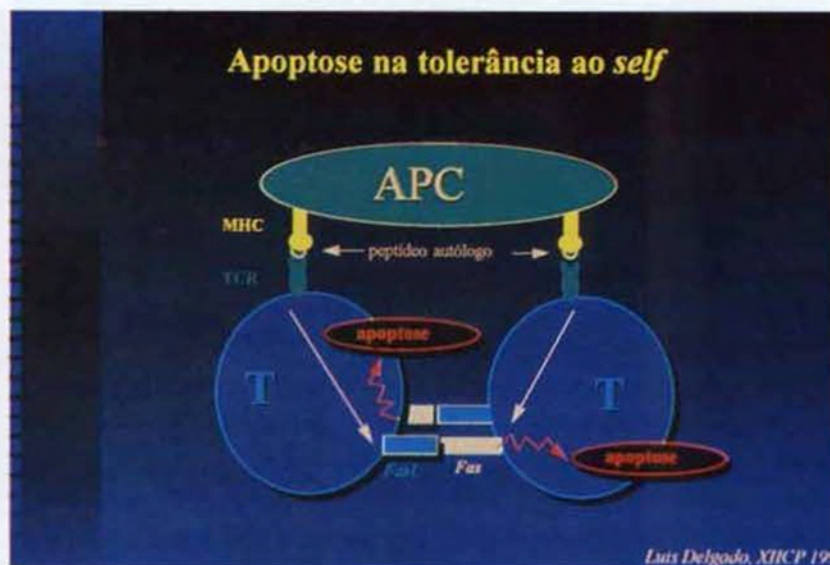


Fig. 4 – Papel da apoptose na tolerância imunológica. O sistema imunológico protege-se de uma reacção contra antígenos do próprio (*self*) pela eliminação dos linfócitos T potencialmente auto-reactivos. Essa deleção clonal ocorre habitualmente no timo, mas pode ocorrer também na periferia, num mecanismo de apoptose que envolve o CD95 (*Fas*) e o seu ligando.

estirpes de ratinhos singénicas com mutações nos genes que codificam estas duas moléculas (*Fas* e *Fas-L*); assim a estirpe MLR *lpr/lpr* (*lpr*= *lymphoproliferation*) tem uma mutação no CD95, enquanto que a MLR *gld/gld* (*gld*= *generalized lymphoproliferative disease*) no seu ligando (*FasL*). Ambas as estirpes desenvolvem linfadenopatias, esplenomegalia, títulos elevados de anticorpos anti-ADN e factor reumatoide, e os animais morrem pelos 5 meses com nefrite ou artrite, i.e. uma doença auto-imune.

A apoptose de linfócitos dependente do sistema *Fas* (CD95) /*FasL* parece estar não só envolvida na selecção negativa T e no controle da auto-imunidade, mas também na própria limitação da expansão clonal T após a estimulação antigénica. De facto, os linfócitos T que não contactaram com antígeno, ditos *naive* (CD45RA+), têm uma baixa expressão de CD95, em contraste com os linfócitos activados ou que contactaram com o antígeno, i.e. os linfócitos T de memória (CD45RO+). Assim, após a eliminação do antígeno, a interacção do CD95 com o seu ligando (*FasL*), também expresso em linfócitos T activados, poderá

contribuir para a limitação do clone celular que foi expandido pelo contacto com o antígeno.

A apoptose é uma das vias através das quais os linfócitos podem exercer actividade citotóxica sobre células alvo (Fig. 5). O *FasL* é essencialmente expresso em linfócitos T citotóxicos CD8+, assim como em alguns linfócitos T auxiliares (sobretudo Th1), podendo participar na citotoxicidade linfocitária. De facto, os linfócitos Tc podem induzir apoptose em células que exprimam CD95. Esta molécula (CD95) e o seu ligando (*FasL*) estão actualmente incluídas numa superfamília de receptores celulares homólogos e de seus ligandos solúveis (Fig. 6), em que pelo menos um outro membro está também envolvido na citotoxicidade linfocitária - o receptor do TNF (TNFR1) e o seu ligando TNF. Curiosamente, a região intracitoplasmática do CD95 e do TNFR1 possuem um domínio idêntico, chamado «domínio letal», que é crítico para a actividade citotóxica dos seus respectivos ligandos. Por outro lado, as granzimas, proteases contidas nos grânulos dos linfócitos citotóxicos, podem activar a ICE ou substituí-la na indução da apoptose (Fig. 5).

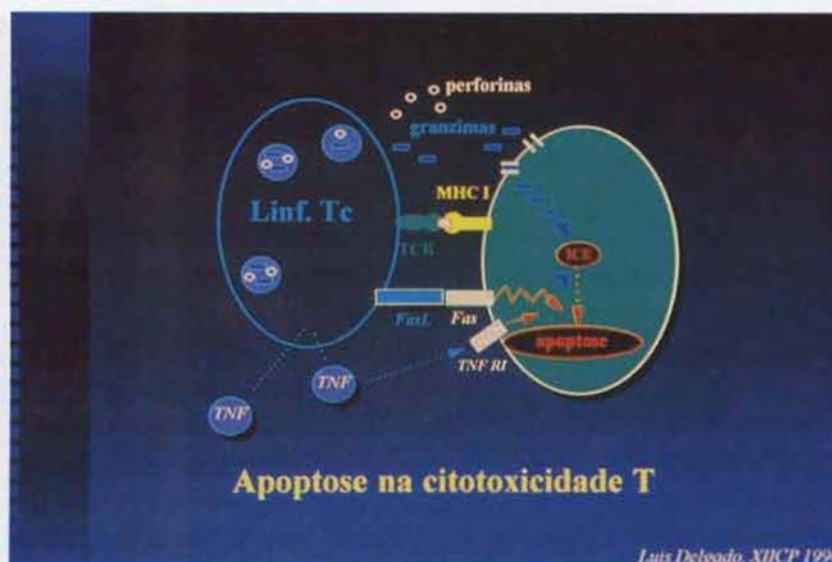


Fig. 5 – Os linfócitos T exercem actividade citotóxica sobre as células alvo por múltiplas vias que activam a apoptose.



Fig. 6 – O CD95 (Fas) e o seu ligando FasL, uma das vias de indução da apoptose, estão actualmente incluídos numa superfamília de receptores celulares homólogos e de seus ligandos solúveis. Pelo menos um outro dos seus membros está envolvido na citotoxicidade linfocitária - o receptor do TNF (TNFRI) e o seu ligando, Factor de Necrose Tumoral (TNF).

A MORTE CELULAR NO CANCRO

O cancro é habitualmente entendido como uma situação em que as células neoplásicas «ignoram» os mecanismos que controlam a proliferação celular.

Sabe-se actualmente que alterações nos mecanismos de apoptose podem contribuir para a proliferação das células neoplásicas. Esta poderá surgir pela interacção do produto de oncogenes que favorecem o crescimento celular com outros que inibem a apoptose, como p.ex.

o *Bcl-2*. De facto, um aumento da expressão ou uma expressão aberrante da proteína do *Bcl-2* está descrita numa grande diversidade de tumores, nomeadamente no cancro do pulmão.

Uma outra via que poderá estar envolvida no controle da apoptose tumoral é acção de certos genes tumorais supressores, como o *p53* (Fig. 7). Este factor de transcrição tem acção supressora tumoral por duas vias: reprimindo a expressão do *bcl-2* favorece a apoptose tumoral; por outro lado, induzindo paragem no ciclo celular em resposta à lesão do ADN, facilita a reparação do ADN. A mutação do *p53* é, até à data, a lesão genética mais frequentemente encontrada em tumores humanos, sendo particularmente frequente no

células tumorais à irradiação e quimioterapia. Assim, da perda funcional do *p53* poderá resultar em aumento da sobrevivência do tumor ou a sua maior resistência à terapêutica.

A MORTE CELULAR NAS INFECÇÕES VÍRICAS

Os vírus podem levar a lesão celular por dois mecanismos - um efeito citopático directo ou a activação da resposta imunológica com uma citotoxicidade indirecta para a célula infectada. Há hoje evidência crescente que os vírus podem controlar ambos os processos influenciando a apoptose, o que lhes trará

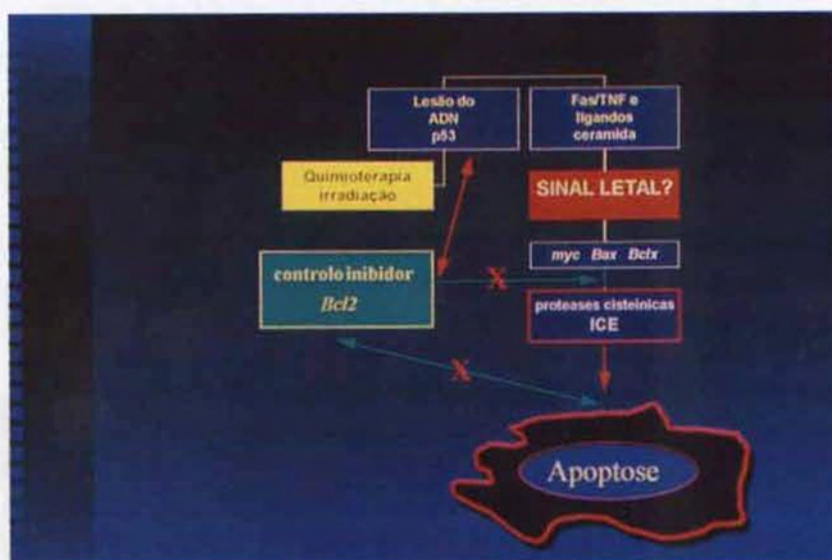


Fig. 7 — Alterações nos mecanismos de apoptose contribuem para a proliferação das células neoplásicas e influenciam a resposta das células tumorais à irradiação e quimioterapia (ver texto).

cancro do pulmão. A sua inactivação facilitará a proliferação das células com lesão no ADN, por menor susceptibilidade à apoptose. Recentemente, num modelo experimental de cancro do pulmão, a terapêutica genética com a inoculação de um retrovirus recombinante *p53*, permitiu suprimir ou reduzir significativamente o crescimento tumoral. Tem sido também demonstrado um papel central do *p53* na resposta das

algumas vantagens biológicas. Por exemplo, ao inibir a apoptose das células infectadas vão garantir a sua replicação e latência. Por outro lado, mesmo induzindo uma reposta de linfócitos T citotóxicos, que se sabe actuarem essencialmente por apoptose da célula alvo, vão levar a uma eliminação rápida da célula alvo infectada, mas sem indução de uma resposta inflamatória o que, indiscutivelmente, diminuirá a

imunogenicidade das partículas víricas. Diversos vírus possuem genes que codificam produtos que influenciam distintos passos da apoptose (Quadro II, Fig. 8).

A indução de apoptose pode ser também um mecanismo patogénico nalgumas infecções víricas. Os

hepatócitos são, por exemplo, sensíveis à apoptose mediada pelo Fas (CD95), antígeno que exprimem abundantemente após infecção pelo vírus B ou C; os linfócitos T citotóxicos, que exprimem o FasL, podem assim induzir apoptose dos hepatócitos e mediar algumas formas experimentais e clínicas de hepatite fulminante associada a estas infecções (Fig. 9).

A apoptose de linfócitos pode contribuir significativamente para a patogenia de algumas infecções víricas humanas, como é o caso do HIV-1 na SIDA e o HTLV-1 em leucemias (Fig. 10). No caso do HIV-1 o vírus participa na apoptose de linfócitos CD4+, mesmo que não infectados, através da gp 120, que liga o receptor CD4, do aumento da expressão do Fas (CD95) na membrana e da proteína Tat que, induzindo a activação prematura de diversas cinases intracelulares, torna a célula T susceptível à apoptose após ligação do TCR ao peptídeo antigénico ou do receptor CD4 à gp 120.

QUADRO II

Alguns genes víricos que codificam produtos que inibem diferentes pontos de controle da apoptose da célula infectada

Homólogos do oncogene <i>BCL-2</i>	p35 do baculovirus BHRF1 do vírus <i>Epstein-Barr</i> LMW5-HL do vírus da peste suína africana E1B do adenovirus
Inibidores das proteases serínicas (ICE)	crmA do <i>cowpox</i>
Inibidores do gene supressor tumoral <i>p53</i>	E6 do <i>herpes virus</i> 40T do <i>simian virus</i>
Inibidores da resposta apoptótica à privação de factores de crescimento	factores de crescimento víricos (e.g. VEGF) oncogenes retrovíricos (e.g. v-ABL)

A MORTE CELULAR NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A maioria das células dos sistema hematopoiético têm uma sobrevivência média relativamente curta, quer *in vivo* quer *in vitro*, sofrendo apoptose na ausência de

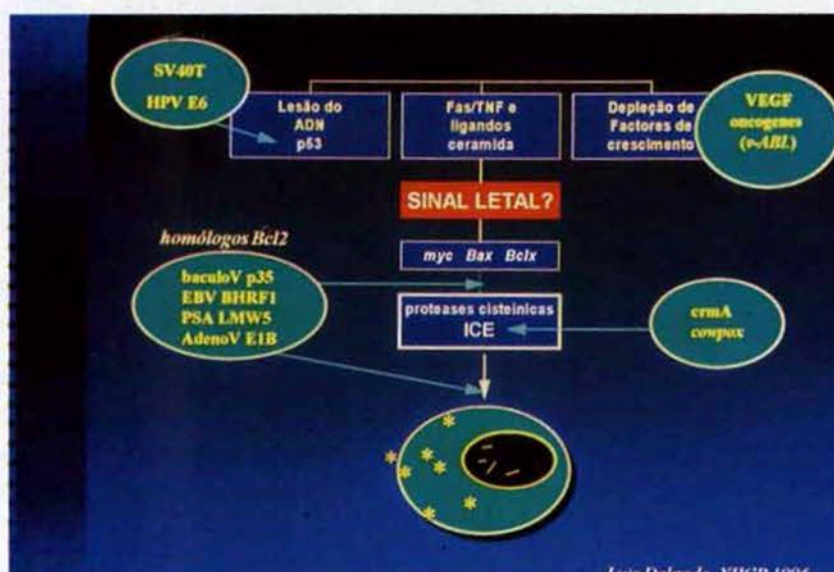


Fig. 8 – A apoptose nas infecções víricas. Diversos vírus possuem genes que codificam produtos que influenciam distintos passos da apoptose.



Fig. 9 – Os hepatócitos são sensíveis à apoptose mediada pelo Fas (CD95), antígeno que exprimem abundantemente após infecção pelo vírus B ou C. Os linfócitos T citotóxicos, que exprimem o FasL, podem mediar algumas formas experimentais e clínicas de hepatite fulminante.

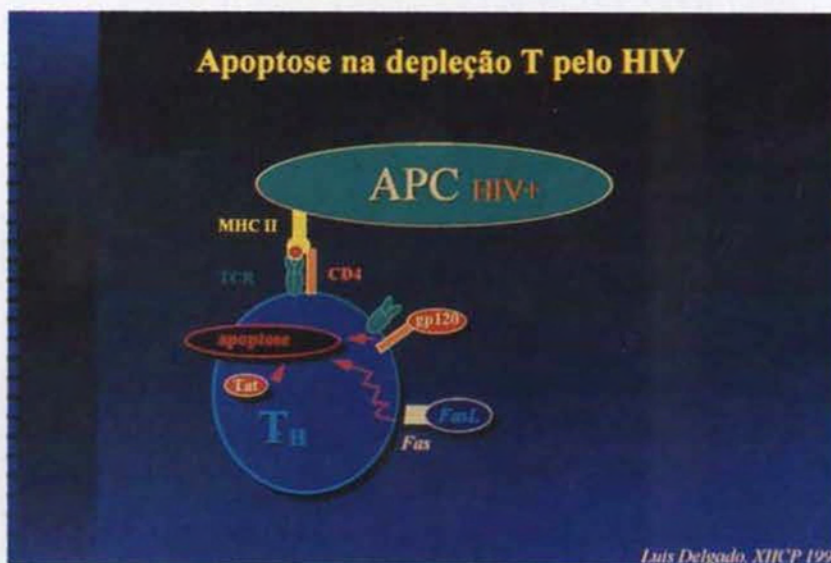


Fig. 10 – A apoptose de linfócitos pode contribuir significativamente para a patogenia da infecção pelo HIV-1 na SIDA.

factores de crescimento/ citocinas. Sabe-se actualmente que a acção de certas citocinas no aumento do número de células de uma determinada linha, pode resultar não só de uma indução da proliferação mas, também, de uma inibição da apoptose (Quadro III).

No caso dos granulócitos neutrófilos e eosinófilos, sabe-se que a sua passagem pela corrente sanguínea é breve (10 e 25h, respectivamente) e que a sua chegada aos tecidos pode acompanhar-se da libertação de potentes mediadores tóxicos contidos nos seus grânulos.

QUADRO III

Algumas citocinas que inibem a apoptose
(adaptado de M.Collins, 1995)

Tipo celular	Citocina
Progenitor da medula óssea	IL-3, GM-CSF, IL-4, IGF-1
Progenitor eritroide	Epo, SCF, IGF-1, IL-1
Timócito	IL-1, IL-2, IL-4
Linfócito T	IL-2, IL-4
Linfócito B	IL-1, TNF, CD23
Monócito	IL-1, TNF, GM-CSF, IFN γ
Granulócito	IL-1 TNF, GM-CSF, G-CSF, IFN γ
Eosinófilo	IL-5 GM-CSF, IL-3
Mastócito	SCF, IL-3

Abreviaturas: IL interleucina, CSF colony stimulating factor, G granulocyte, M macrophage, IGF insulinlike growth factor, Epo eritropoietina, SCF stem cell factor, TNF tumor necrosis factor, IFN interferon

los. Esta, ocorre não só por activação celular mas também pela sua necrose nos tecidos, factores que contribuem significativamente para a patogenia da resposta inflamatória. No entanto, dado o *turnover* elevado destes leucócitos é de pressupor a existência de mecanismos não inflamatórios para remoção das células senescentes. De facto, os granulócitos envelhecidos sofrem apoptose, o que leva a uma paragem nos seus mecanismos secretores, seguida de uma rápida fagocitose da célula intacta (com os seus grânulos) pelos macrófagos (Fig. 11). A própria captação pelos macrófagos, ao contrário do que acontece com outras partículas, não se acompanha da libertação de mediadores macrofágicos inflamatórios, o que parece estar dependente dos receptores de superfície envolvidos na captação de células apoptóticas.

Nos macrófagos, a captação de células em apoptose parece envolver determinados receptores, como sejam o receptor da vitronectina (CD51 /CD61, uma molécula de adesão intercelular da família β_3), o CD36 e um possível receptor para a fosfatidilserina, um fosfolípido da membrana celular, habitualmente presente na sua



Fig. 11 — Os macrófagos captam as células em apoptose através de receptores, como o da vitronectina, o CD36 e um receptor para a fosfatidilserina, um fosfolípido da membrana celular exposto na superfície celular nas células apoptóticas. Essa captação, ao contrário do que acontece com outras partículas, não se acompanha da libertação de mediadores macrofágicos inflamatórios.

face interna em células normais e exposto na superfície celular nas células apoptóticas (Fig. 11). Há também evidência que a adesão da célula apoptótica a estes receptores é mediada por uma glicoproteína adesiva secretada pelos macrófagos e muitas outras células - a trombospodina- que funcionará, assim, como uma «cola biológica» entre os dois tipos celulares.

Deste modo, a apoptose tem-se evidenciado como o mecanismo fisiológico primordial para a eliminação de leucócitos senescentes, de modo a não induzir inflamação e evitar o potencial lesivo dos seus mediadores. Por oposição, na resposta inflamatória assiste-se-à, essencialmente, a uma inibição da apoptose leucocitária (citocinas, factores de crescimento) e/ou a uma inibição da sua captação macrofágica (redução do pH, fragmentos de fibronectina, vitronectina,...) resultando, por ambos os mecanismos, um prolongamento da sobrevivência funcional e do potencial lesivo dos leucócitos.

A MORTE CELULAR EM ... ETC! (CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS)

Nos últimos anos, a compreensão de que a morte celular programada, apoptose, é o principal mecanismo

que controla o *turnover* celular em organismos multicelulares, regulando, por mecanismos possivelmente ancestrais, a diferenciação e crescimento celulares, levou a equacionar, de um modo totalmente inovador, a hipótese do seu envolvimento em múltiplas situações patológicas (Figs. 12 e 13).

Assim, tem sido considerado o envolvimento da apoptose nos mecanismos patogénicos de doenças tão diversas como a doença poliquística renal, as hepatites tóxicas, a lesão tecidual por isquemia, as doenças osteoarticulares degenerativas, a diabetes mellitus e outras doenças auto-imunes, doenças hematológicas (anemia aplástica, síndrome mielodisplásica,...), doenças neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson,...) e mesmo no próprio processo do envelhecimento. Por outro lado, a compreensão da importância da apoptose na biologia do cancro e, muito particularmente, na sua resistência à terapêutica, tem levado a planear e desenhar novas armas terapêuticas que interfiram com a maquinaria genética e molecular da apoptose nas células tumorais. Com o progressivo desvendar destes mecanismos o futuro abre, assim, perspectivas totalmente novas no entendimento e modulação da biopatologia humana e, talvez, novas respostas para um mito da Medicina – o controlo do envelhecimento celular.

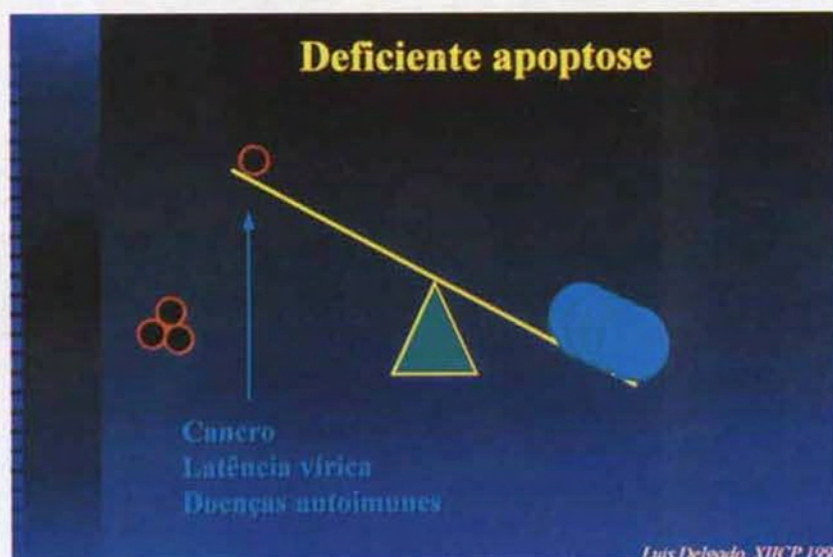


Fig. 12 – Uma deficiente apoptose poderá estar envolvida na patogenia de doenças que se acompanham de uma proliferação celular excessiva ou da persistência de células lesadas.

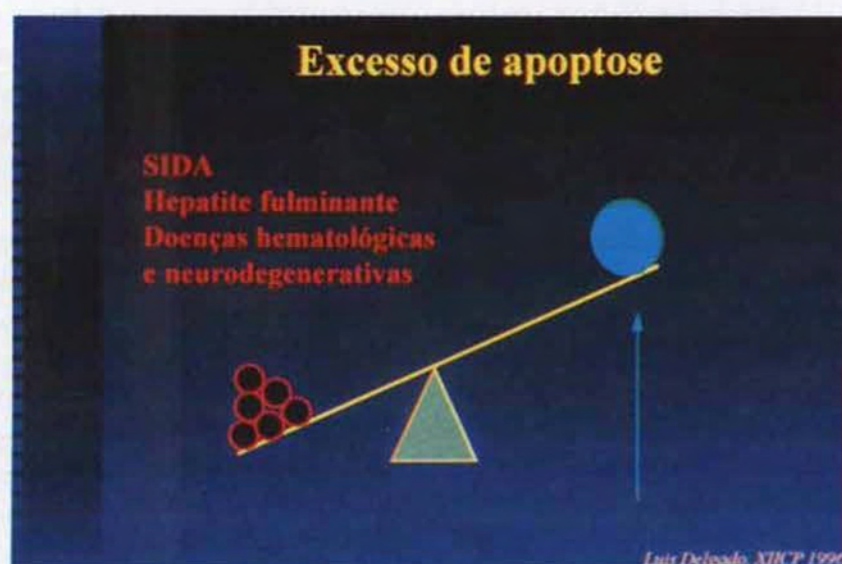


Fig. 13 – Um excesso de apoptose poderá estar envolvida na patogenia de doenças que se acompanham de destruição celular excessiva.

BIBLIOGRAFIA

- ANDRIEU JM, LU W. Viro-immunopathogenesis of HIV disease: implications for therapy. *Immunol Today*, 16: 5-7; 1995.
- ASHWELL JD, BERGER NA, CIDLOWSKI JA, LANE DP, KORSMEYER SJ. Coming to terms with death: apoptosis in cancer and immune development. *Immunol Today*, 15:147-151; 1994.
- BERKE G. Unlocking the secrets of CTL and NK cells. *Immunol Today*, 16: 343-346; 1995.
- BÉRUBÉ KA, QUINLAN TR, FUNG H, MAGAE J, VACEK P, TAATJES DJ, MOSSMAN BT. Apoptosis is observed in mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15 (1): 141-147; 1996.
- BINGISSER R, STEY C, WELLER M, GROSCURTH P, RUSSIE, FREI K. Apoptosis in human alveolar macrophages is induced by endotoxin and is modulated by cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15 (1): 64-70; 1996.
- CARNEY DN. The biology of lung cancer. *Current Opin Pulmon Med*, 1: 271-277; 1995.
- COHEN JJ. Apoptosis. *Immunol Today*, 14: 126-130; 1993.
- COHEN JJ. Exponential growth in apoptosis. *Immunol Today*, 16: 346-348; 1995.
- COLLINS M. Potential roles of apoptosis in viral pathogenesis. *Am J Respir Crit Care Med*, 152: 520-524; 1995.
- CRISPE IN. Kingdom of the worm - cell death in the Immune System. *The Immunologist*, 3: 179-181; 1995.
- GRUSS HJ, DOWER SK. Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas. *Blood*, 85: 3378-3404; 1995.
- HASLETT C. Cell death: molecular mechanisms. *Am Acad Allergy Asthma Immunol. Postgraduate Syllabus*. New Orleans; 1996.
- HERRY I, BONAY M, BOUCHONNET F, SCHULLER MP, LECOSSIER D, TAZI A, LYNCH DH, HANCE AJ. Extensive apoptosis of lung T-lymphocytes maintained in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15: 339-347; 1996.
- HOLMBERG D, LEJON K, PENHA-GONÇALVES C, CILIO CM, COLUCCI F, BERGMAN M-L. Defective lymphocyte apoptosis – a pathogenic factor in murine IDDM. *The Immunologist*, 4/4:128-130; 1996.
- KAGI D, LEDERMANN B, BURKI K, ZINKERNAGEL RM, HENGARTNER H. Molecular mechanisms of lymphocyte-mediated cytotoxicity and their role in immunological protection and pathogenesis in vivo. *Annu Rev Immunol*, 14: 207-232; 1996.
- KALECHMAN Y, SHANI A, DOVRAT S, WHISNANT JK, METTINGER K, ALBECK M, SREDNI B. The

- antitumoral effect of the immunomodulator AS 101 and Paclitaxel (Taxol) in a murine model of lung adenocarcinoma. *J Immunol*, 156: 1101-1109; 1996.
17. KAY AB, MENG Q, TABORDA-BARATA L, YING S. Apoptosis of neutrophils and eosinophils and their ingestion by macrophages is associated with the resolution of allergen-induced cutaneous late phase response. *J Allergy Clin Immunol*, 97, 1 (Part 3): 357 (abstract); 1996.
 18. KITAGAWA Y, WONG F, LO P, ELLIOTT M, VERBUEGT LM, HOGG JC, DAYA M. Overexpression of Bcl-2 and mutations in p53 and K-ras in resected human nonsmall cell lung cancers. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15 (1): 45-54; 1996.
 19. KLAUS SJ, LAW CL. Molecules that regulate B-cell fate. *The Immunologist*, 4/3: 91-98; 1996.
 20. KROEMER G, MARTINEZ-AC. Pharmacological inhibition of programmed lymphocyte death. *Immunol Today*, 15: 235-242; 1994.
 21. LYNCH DH, RAMSDELL F, ALDERSON MR. Fas and FasL in the homeostatic regulation of immune responses. *Immunol Today*, 16: 569-574; 1995.
 22. MIYAWAKI T, UEHARA T, NIBUR, TSUJI T, YACHIE A, YONEHARA S, TANIGUCHI N. Differential expression of apoptosis-related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. *J Immunol*, 149: 3753-3758; 1992.
 23. NAGATA S, SUDA T. Fas and Fas ligand: lpr and gld mutations. *Immunol Today*, 16: 39-43; 1995.
 24. OYAIZU N, PAHWA S. Role of apoptosis in HIV disease pathogenesis. *J Clin Immunol*, 15: 217-231; 1995.
 25. PUSHKAREVA M, OBEID LM, HANNUN YA. Ceramide: an endogenous regulator of apoptosis and growth suppression. *Immunol Today*, 16: 294-297; 1995.
 26. SAVILL J, FADOK V, HENSON P, HASLETT C. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today*, 14: 131-136; 1993.
 27. SIMON HU, BLASER K. Inhibition of programmed eosinophil death: a key pathogenic event for eosinophilia? *Immunol Today*, 16: 53-55; 1995.
 28. SMYTH MJ, TRAPANI JA. Granzymes: exogenous proteinases that induce target cell apoptosis. *Immunol Today*, 16: 202-206; 1995.
 29. SOLARY E, DUBREZ L, EYMIN B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J*, 9: 1293-1305; 1996.
 30. SOUSSI T. The humoral response to the tumor-suppressor gene-product p53 in human cancer: implications for diagnosis and therapy. *Immunol Today*, 17: 354-356; 1996.
 31. SUDA T, OKAZAKI T, NAITO Y, YOKOTA T, ARAI N, OZAKI S, NAKAO K, NAGATA S. Expression of the Fas ligand in cells of T cell lineage. *J Immunol*, 154: 3806-3813; 1995.
 32. WEINTRAUB SJ. Inactivation of suppressor proteins in lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15: 150-155; 1996.
 33. WILEY SR, SCHOOLEY K, SMOLAK PJ. TNF family expands to ten: new member has role in apoptosis. *Immunity*, 3: 673-682; 1995.
 34. WRIGHT SD, KOLESNICK RN. Does endotoxin stimulate cells by mimicking ceramide? *Immunol Today*, 16: 297-302; 1995.